

Ecofisiología del nitrógeno en plantas mediterráneas: estrategias de absorción de distintas formas químicas de nitrógeno, respuesta funcional y utilización de las reservas para el crecimiento

M. Uscola^{1,2,*}

(1) Grupo de Ecología y Restauración Forestal, Departamento de Ciencias de la Vida, U.D. Ecología, Campus universitario, A.P. 20, Universidad de Alcalá, E-28805, Alcalá de Henares, Madrid, España.

(2) Dirección actual: Department of Forestry and Natural Resources, Pfendler hall of Agriculture, 126, Purdue University, West Lafayette, IN 47907-2061, Estados Unidos.

* Autor de correspondencia: M. Uscola [mercedes.uscola@uah.es]; [muscolaf@purdue.edu]

> Recibido el 10 de enero de 2014, aceptado el 22 de abril de 2014.

Uscola, M. 2014. Ecofisiología del nitrógeno en plantas mediterráneas: estrategias de absorción de distintas formas químicas de nitrógeno, respuesta funcional y utilización de las reservas para el crecimiento. *Ecosistemas* 23(2): 137-142. Doi.: 10.7818/ECOS.2014.23-2.18

Los ecosistemas mediterráneos están caracterizados por una alta diversidad vegetal. El agua y la luz son los principales recursos que condicionan la distribución de plantas y la estructura de las comunidades vegetales. Sin embargo, el nitrógeno (N) también es un recurso limitante en ecosistemas mediterráneos. Las plantas mediterráneas podrían presentar diferentes estrategias de uso del N, segregando sus nichos ecológicos y por tanto, este nutriente sería otro factor abiótico determinante de la alta diversidad vegetal del bioma mediterráneo. Con esta idea como eje central, el objetivo general de este trabajo fue estudiar las estrategias de uso del N en plantas forestales mediterráneas. Para ello, se estudiaron tres procesos principales en la economía del N: adquisición (radical y foliar), removilización de reservas y respuesta funcional (Fig. 1).

Se ha trabajado con 12 especies de plantas, seleccionándose para cada experimento un conjunto diferente de éstas (Fig. 1). Todas las especies están ampliamente distribuidas en el ámbito mediterráneo y la mayoría coexisten en los ecosistemas naturales. Las especies representan estrategias ecológicas y funcionales distintas. Además, muchas de las especies se utilizan en los programas de repoblación. En los experimentos se utilizaron plantas de una o dos savias ya que la fase juvenil es una de las etapas más limitantes en el reclutamiento de las plantas. Además, pese a que las especies representan diferentes formas de crecimiento, es principalmente en la fase juvenil en la que las especies van a competir directamente por el N.

Adquisición de N

Las plantas pueden adquirir el N en forma de nitrato, de amonio o en formas orgánicas. Puede decirse, por tanto, que el N no es un recurso único, sino un recurso múltiple compuesto por distintas formas químicas. Las especies de plantas parecen diferir en su capacidad de adquisición y preferencia por las fuentes de N. Ello permitiría la segregación de nichos ecológicos en base a la adquisición de N. Sin embargo, las estrategias de adquisición del N en

plantas mediterráneas son poco conocidas. Por ejemplo, se desconocen sus preferencias por las fuentes de N o la capacidad de utilizar N orgánico como fuente de N. Tampoco se conoce la importancia relativa de la absorción foliar de N para la nutrición de las plantas, especialmente considerando que en numerosos ecosistemas áridos los niveles de deposición de N son elevados.

En nueve especies forestales mediterráneas que representan formas de crecimiento diferentes se encontraron diferencias en la capacidad de absorción radical de N. La especie herbácea y los caméfitos presentaron mayores tasas de absorción de N que los arbustos y árboles (Fig. 2a). La mayor absorción de N se relacionó con una mayor longitud específica de raíces y la mayor capacidad de metabolización del N absorbido (medida como reducción de nitrato). Todas las especies absorbieron glicina intacta por las raíces, mostrando así su capacidad de uso de N orgánico como fuente de N. Además, la concentración de N aportada por los aminoácidos en el suelo fue tan alta como la concentración N de las fuentes inorgánicas. El grado de micorrización con hongos micorrícicos arbusculares afectó positivamente la absorción de glicina, aunque no las fuentes de N inorgánicas. Sin embargo, no se encontró efecto de las ectomicorizas, lo cual se atribuyó a un bajo grado de micorrización. También se encontró que la preferencia entre las fuentes de N difirió entre especies, aunque la mayoría prefirieron el NH_4^+ como fuente de N a expensas del NO_3^- , la intensidad con la que la herbácea y los caméfitos prefirieron el NH_4^+ fue superior a la de los árboles y arbustos, excepto *Juniperus thurifera*. Por otro lado, mientras los árboles generalmente dominantes de la masa forestal como *Q. ilex* o *Q. faginea* prefirieron el NH_4^+ , los arbustos que suelen acompañar estas masas, como *Rhamnus alaternus* y *Rosa canina*, mostraron mayor preferencia por el NO_3^- y/o la glicina (Fig. 2b).

Se encontraron diferencias en la absorción foliar de N de especies forestales mediterráneas, siendo mayor la absorción foliar de N en *Quercus ilex* que en *Pinus halepensis* Mill. (Fig. 2c). La conductancia cuticular al vapor de agua no explicó las diferencias inter-específicas en la absorción foliar de N, aunque, a escala intra-

específica, una mayor conductancia cuticular estuvo positivamente asociada con una mayor absorción de N. Las diferencias entre especies se relacionaron con la mayor capacidad de intercepción de la deposición, densidad de estomas y la presencia de tricomas en *Q. ilex*. Además, se encontraron diferencias de absorción foliar según fuentes de N, la urea fue la fuente de N más absorbida, seguida de NH_4^+ , glicina y NO_3^- , sin diferencias significativas entre estas tres últimas. Por último, la aplicación foliar de N incrementó la concentración de N de la planta, pero el incremento se debió también a una estimulación de la absorción radical de N.

Distribución y removilización de N

La forma en que las especies emplean las reservas de carbono (C) y N puede ser crucial para su estrategia competitiva. Las plantas pueden segregar el uso del N en el tiempo mediante una utilización diferente de las reservas durante el crecimiento en primavera. El patrón de distribución y removilización de las reservas a escala de planta entera en leñosas se conoce muy bien en coníferas y planifolios caducifolios. En cambio, apenas conocemos cómo es el proceso en planifolios perennifolios, a pesar de su dominancia en muchos ecosistemas forestales del mundo.

En las cuatro especies estudiadas (*Quercus ilex*, *Q. coccifera*, *Olea europea* y *Pinus halepensis*), las raíces nuevas se construyeron principalmente con reservas de N y C al principio de la primavera. En cambio, a mitad de la primavera el suelo y la fotosíntesis del momento cubrieron la mayor parte de la demanda de C y N de las nuevas raíces excepto en *Q. coccifera* (Fig. 3). A escala tanto intraespecífica como interespecífica, la removilización de N y el crecimiento absoluto estuvieron alta y positivamente correlacionados con la cantidad de reservas al principio de la primavera. Por último, en todas las especies, las hojas viejas fueron el principal órgano suministrador de N y C removilizado. Sin embargo, se encontraron diferencias interespecíficas en el patrón de uso de reservas para la construcción de los nuevos brotes, que fueron el principal sumidero de recursos: en las quercíneas se construyeron principalmente con N edáfico y C de la fotosíntesis, mientras que en *P. halepensis* se abastecieron de N y C removilizados de las reservas.

Respuesta morfofisiológica a las fuentes de N

Las fuentes de N condicionan la morfología y fisiología de las plantas. Sin embargo, se sabe poco sobre la respuesta funcional de las especies mediterráneas a las fuentes de N. En *P. halepensis* y *Q. ilex*, el efecto de las fuentes de N dependió de la concentración de N en el sustrato. Mientras que a baja concentración (1 mM N) el efecto de las fuentes de N fue muy pequeño, a alta concentración (10 mM N), las fuentes de N condicionaron el desarrollo fuertemente. Proporciones crecientes de NH_4^+ en el fertilizante a alta concentración de N causaron toxicidad ya que redujeron el crecimiento y causaron mortalidad, siendo el efecto superior en *Q. ilex*. Por el contrario, un incremento en la proporción de NO_3^- a alta concentración de N promovió el crecimiento en *P. halepensis* pero tuvo efectos mínimos en *Q. ilex*. Además, proporciones crecientes de NH_4^+ incrementaron la concentración de la planta en P pero redujeron la de K en ambas especies, mientras que el efecto contrario se encontró cuando la fuente de N era NO_3^- . La respuesta a las fuentes de N también se relacionó con la ecología de las especies. *P. halepensis*, un árbol pionero en la sucesión forestal, presentó una gran plasticidad ante cambios en la disponibilidad de N, además esta especie generalmente se desarrolla en suelos degradados calizos, donde generalmente la concentración de NO_3^- es superior a la de NH_4^+ , y presentó mejor desarrollo al ser cultivado con NO_3^-

que con NH_4^+ o una mezcla equimolar de NO_3^- y NH_4^+ . En cambio, *Q. ilex* un árbol de etapas tardías de la sucesión, que coloniza distintos tipos de suelos, presentó baja respuesta tanto a las fuentes como a la concentración de N.

La estrategia de uso del N en especies mediterráneas está relacionada con la velocidad de crecimiento

Las demandas de N se pueden cubrir mediante absorción de N del suelo o por la removilización de reservas. Por otra parte, la fuente de N preferida puede afectar al balance energético de la planta. Ambos factores podrían explicar las diferencias en las tasas de crecimiento entre especies. En contra de lo esperado, las plantas con mayor velocidad de crecimiento no presentaron mayor capacidad de absorción de N (Fig. 4a). Sin embargo, se encontró que las especies que presentaron una elevada preferencia por el NH_4^+ fueron las de mayor velocidad de crecimiento (Fig. 4b). Mientras que en especies de crecimiento lento la preferencia por las fuentes de N fue más parecida a las proporciones de las fuentes de N disponibles en el suelo. Una explicación a dicho patrón es que la metabolización de NH_4^+ requiere menor gasto energético que el de las otras fuentes de N, lo que dejaría disponible una mayor cantidad de energía para el crecimiento. Además, una mayor absorción de NH_4^+ favorece la absorción de fósforo, que es un nutriente limitante para las comunidades de plantas que crecen en suelos calizos. Ello podría contribuir a mantener una elevada tasa de crecimiento relativa (RGR).

La contribución relativa de las reservas para la construcción de los brotes, principal sumidero de recursos, se incrementó con la RGR (Fig. 4c). Las quercíneas, especies de crecimiento más lento, usaron principalmente C y N recién adquiridos (N del suelo y C de la fotosíntesis del momento), mientras que en *P. halepensis*, la especie de crecimiento más rápido, los brotes se construyeron principalmente con C y N de las reservas. Estas diferencias en la dependencia del C y N removilizado se atribuyeron a una mayor demanda de recursos de los órganos viejos en las especies con alta RGR, probablemente debido al crecimiento diametral y a la recuperación de las reservas removilizadas para apoyar el crecimiento de los nuevos órganos.

La conclusión general de esta Tesis es que las especies forestales mediterráneas presentan distintas capacidades de absorción y respuesta morfofisiológica a las formas químicas de N, así como diferente uso de las reservas para apoyar el crecimiento de los nuevos órganos. Se demuestra que los aminoácidos son una fuente de N potencialmente importante en ecosistemas mediterráneos, ya que su abundancia en suelos es tan alta como la del N inorgánico y las plantas mediterráneas son capaces de absorberlos intactos. Finalmente, las diferencias en la utilización de N parecen condicionar la velocidad de crecimiento de las plantas, un atributo clave para su eficacia biológica. Todo ello indica que las plantas mediterráneas tienen diferentes nichos fundamentales en base al uso del N y sugiere que este nutriente juega un papel significativo en la estructura y funcionamiento de las comunidades vegetales mediterráneas.

Agradecimientos

La Tesis doctoral que se presenta se desarrolla amparada con una beca FPU del Ministerio de Educación y la mayor parte de sus objetivos se desarrollan en el marco de los proyectos AGL2006-12609-C02-01/FOR ENCINUT, CGL2007-60533/BOS, AGL2011-24296/FOR ECOLPIN y los Programas REMEDINAL S-0505/AMB/0355 y REMEDINAL-2 S2009/AMB-1783.

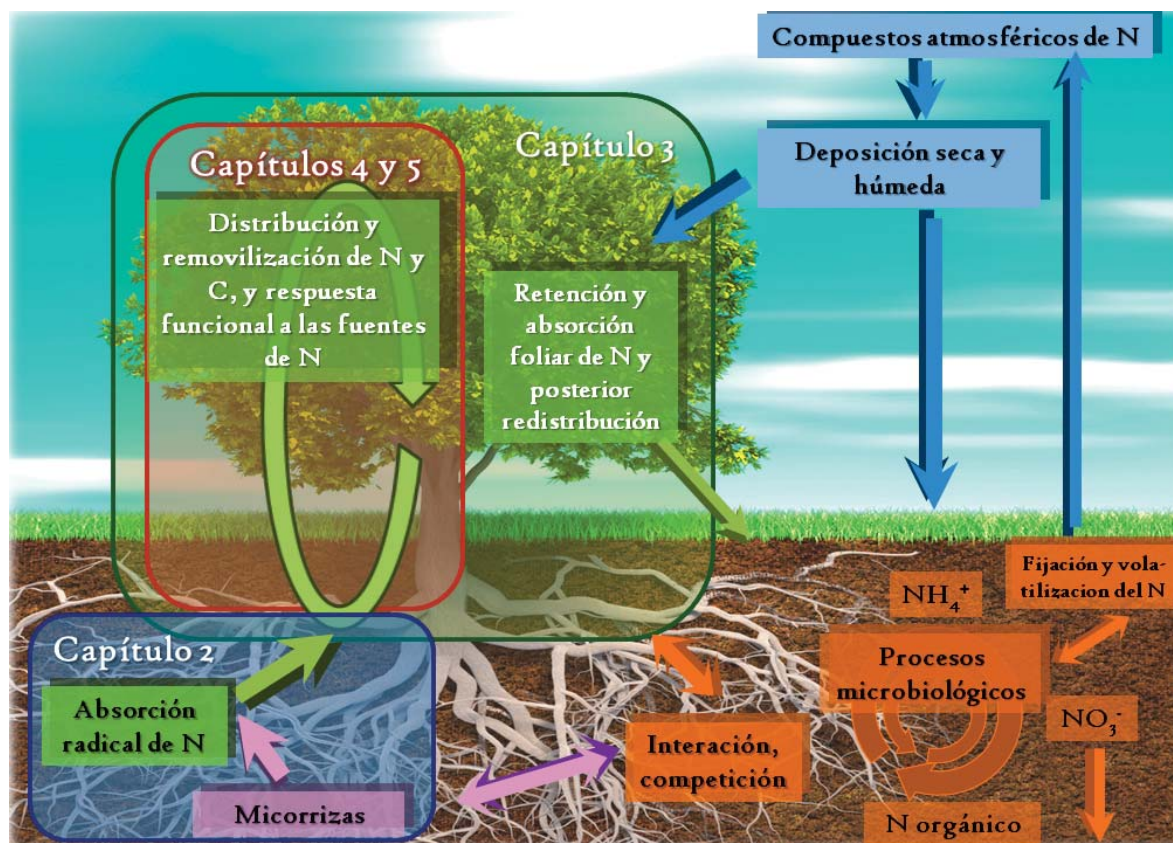


Figura 1. Principales procesos que determinan la disponibilidad de nitrógeno (N) para las plantas en ecosistemas terrestres y estructura esquemática de la tesis. La principal vía de adquisición de N para las plantas es la absorción radical, en este proceso interactúan y/o compiten con los microorganismos edáficos. En el suelo, el N se transforma entre sus distintas formas químicas mediante procesos físico-químicos y microbiológicos (en naranja procesos microbiológicos), parte del N puede perderse por lixiviación hacia aguas subterráneas. Las plantas establecen simbiosis micorrízicas, y éstas afectan a su capacidad de absorber N y la de competir con los microorganismos (en morado procesos micorrízicos). La capacidad de absorción radical de distintas fuentes de N (glicina, amonio- NH_4^+ y nitrato- NO_3^-) se analizó en nueve especies forestales que se encuentran comúnmente en masas forestales de suelos calizos a altitud media (700-1100 m.s.n.m.) (**Capítulo 2**): tres árboles intermedios - tardíos de la sucesión, *Pinus nigra* subsp. *salzmannii*, *Quercus ilex* subsp. *ballota* y *Q. faginea*; dos arbustos, *Rosa canina* and *Rhamnus alaternus*, que generalmente aparecen como especies subordinadas en masas maduras dominadas por las anteriores especies, pero que también pueden colonizar campos agrícolas abandonados; y cuatro especies pioneras, un árbol, *Juniperus thurifera*, que también puede constituir la etapa clímax en determinadas zonas; y dos caméfitos, *Thymus vulgaris* y *Santolina chamaecyparissus*, y por último una herbácea, *Brachypodium retusum*. Sin embargo, en ecosistemas terrestres también hay una entrada de N a través de procesos de deposición atmosférica (en azul procesos atmosféricos). Gran parte del N depositado es retenido por las partes aéreas de las plantas, y absorbido por vía foliar, aunque otra parte es lavada por la lluvia y depositado en el suelo (en verde procesos vegetales). La absorción foliar de distintas fuentes de N (glicina, urea, NH_4^+ y NO_3^-) se analizó en dos especies forestales mediterráneas (**Capítulo 3**): *Pinus halepensis* es una especie de rápido crecimiento con menor densidad y conductancia estomática que *Q. ilex*, la cual es una especie de lento crecimiento y con una densa capa de tricomas en las hojas. Una vez la planta ha adquirido el N, éste se distribuye a puntos de demanda o se almacena para un uso posterior mediante removilización. El almacenamiento de carbono (C) asimilado en el invierno, y la contribución del C y N removilizados para el crecimiento de nuevos órganos en primavera se estudió en cuatro especies forestales perennifolias mediterráneas (**Capítulo 4**): *P. halepensis* un árbol intolerante a la sombra no brotador muy común en suelos calizos oligotrofos de zonas secas y semiáridas; y tres especies planifolias tolerantes a la sombra y con capacidad de rebrote: *Quercus ilex*, árbol dominante en muchas comunidades forestales mediterráneas; *Quercus coccifera*, arbusto de lento crecimiento común en masas forestales tanto de *Q. ilex* como de *P. halepensis*; y *Olea europaea* un árbol intermedio en la sucesión muy común en masas *Q. ilex* y *Q. suber* de lugares muy térmicos. Por último, la nutrición vegetal con distintas formas de N produce distinta respuesta morfofisiológica en las especies vegetales, esto se analizó en dos especies forestales mediterráneas (*Q. ilex* y *P. halepensis*) a fuentes inorgánicas de N (**Capítulo 5**).

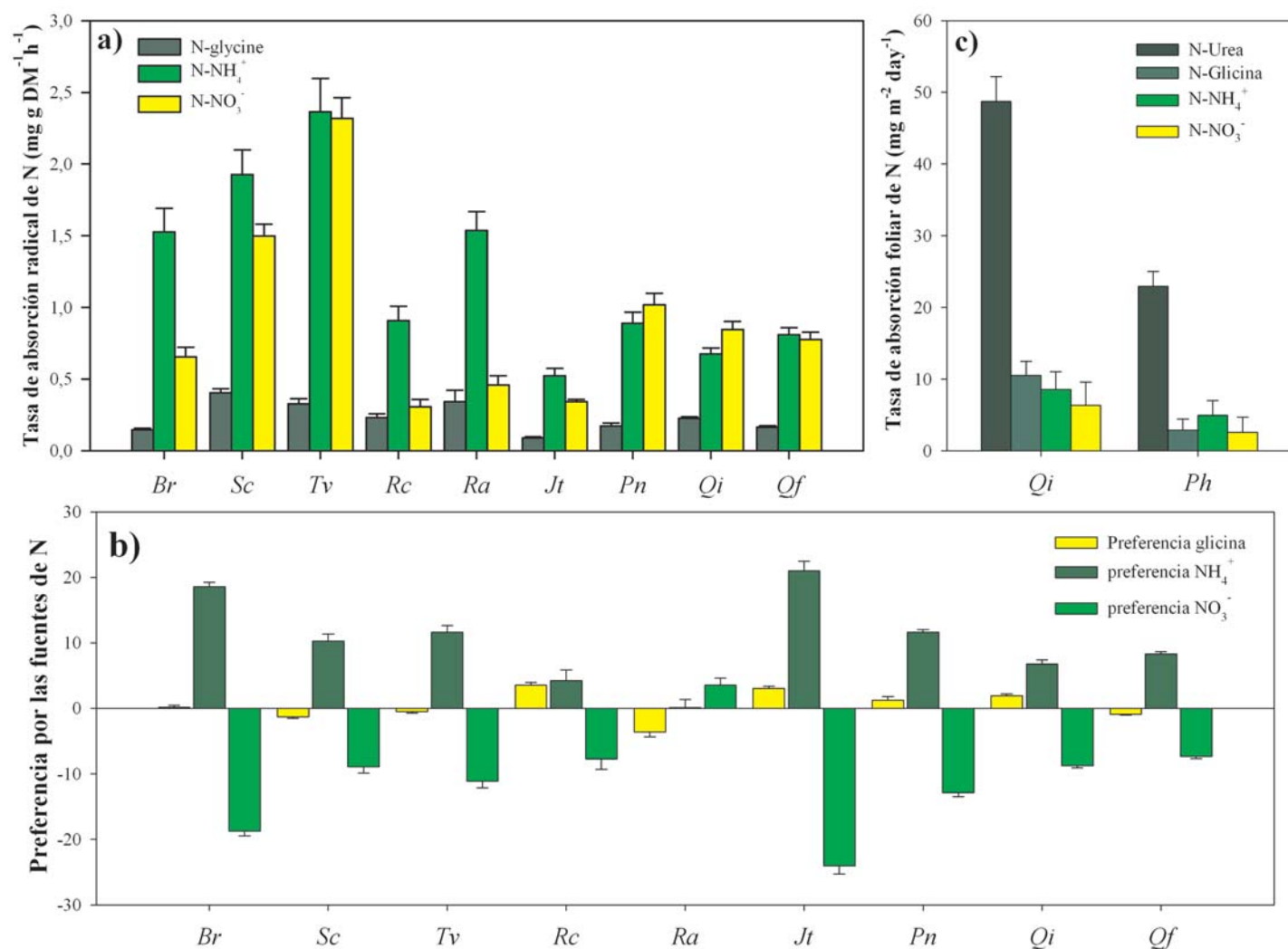


Figure 2. (a) Tasa de absorción radical y (b) preferencias por tres fuentes de N (glicina, amonio - NH₄⁺ y nitrato - NO₃⁻) a través de raíces intactas en plantas de una savia en nueve especies forestales mediterráneas. (c) Tasa de absorción foliar de cuatro fuentes de N (urea, glicina, NH₄⁺ y NO₃⁻) en plantas de una savia de dos especies forestales mediterráneas. Las tasas de absorción radical se determinaron mediante incubación de las raíces durante 6-8 h en un sustrato experimental (mezcla de vermiculita + suelo de un encinar de dos micrositios: debajo de encinas y claros 1:1 v/v/v). Las tasas de absorción radical se midieron usando una mezcla equimolar de las tres fuentes de N marcadas con ¹⁵N a una concentración total de 0.9 mM N y ajustadas según la dilución producida por la presencia de fuentes de N en el sustrato utilizado (n = 8). La preferencia es un índice que se calculó comparando la proporción de la fuente de N absorbida con respecto al total de N absorbido y la abundancia relativa de dicha fuente de N presente en el suelo (valores entre 100 y -100). Así, si las especies no presentan preferencia por una fuente de N la absorción será función de su abundancia relativa en el suelo y por tanto el valor de la preferencia será cero. Valores negativos de preferencia indican que la fuente de N es absorbida por debajo de su abundancia relativa en suelo, mientras que valores positivos indican que se ha absorbido preferentemente, es decir, por encima de su abundancia relativa en el suelo. Las tasas de absorción foliar se determinaron en plantas fumigadas tres veces al día durante dos días con soluciones 40mM de N de cada una de las fuentes de N marcadas con ¹⁵N (n=8-10). Las medias de absorción foliar están ajustadas a una conductancia cuticular al vapor de agua de 8.89 mmol m⁻² s⁻¹. Los datos son medias ± un error estándar. Las especies pertenecen a distintas formas de crecimiento: Herbáceas (Br: *Brachypodium retusum*); caméfitos (Sc: *Santolina chamaecyparissus*; Tv: *Thymus vulgaris*); arbustos (Rc: *Rosa canina*; Ra: *Rhamnus alaternus*); y árboles (Jt: *Juniperus thurifera*; Pn: *Pinus nigra*; Pa: *Pinus halepensis*; Qi: *Quercus ilex*; Qf: *Quercus faginea*).

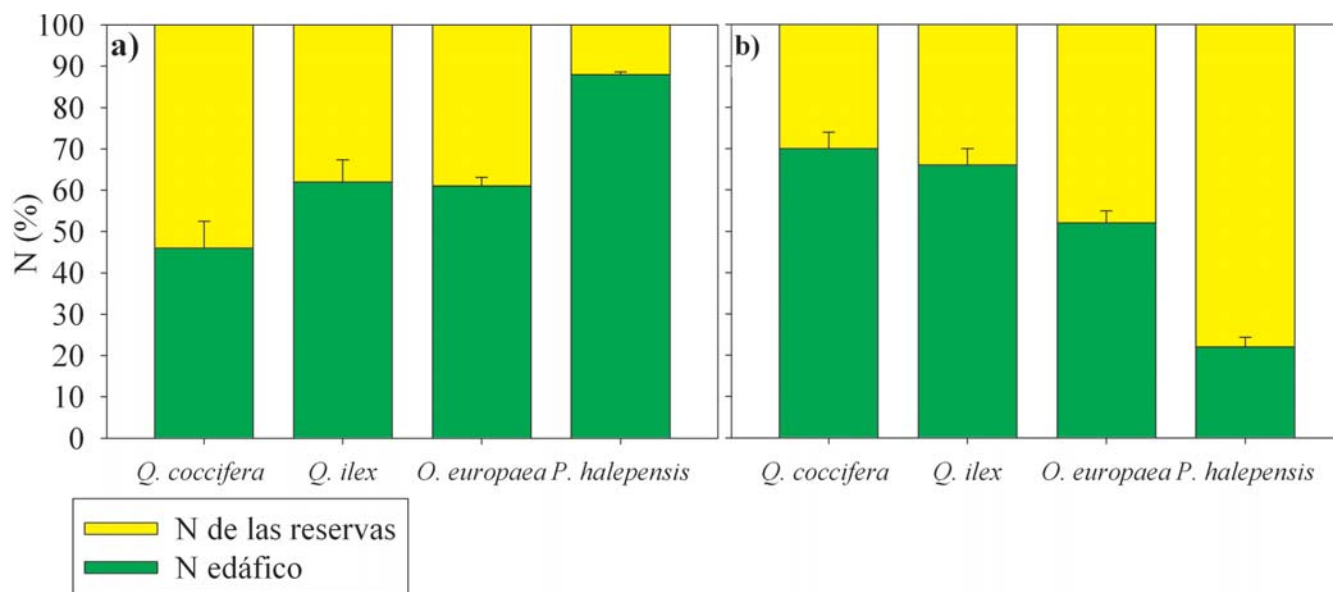


Figura 3. Proporción de N absorbido del suelo y de N proveniente de la removilización de las reservas a la mitad de la primavera en raíces nuevas (a) y brotes nuevos (b) en plantas de dos savias de cuatro especies forestales mediterráneas: dos quercíneas, una arbustiva (*Quercus coccifera*) y una arbórea (*Quercus ilex*), así como otro árbol planifolio perenne (*Olea europaea* var. *sylvestris*) y una conífera arbórea (*Pinus halepensis*). Los datos son medias \pm un error estándar ($n = 8$). La contribución del N edáfico al crecimiento se determinó por marcaje del N del fertilizante con ^{15}N a una abundancia del 2 %.

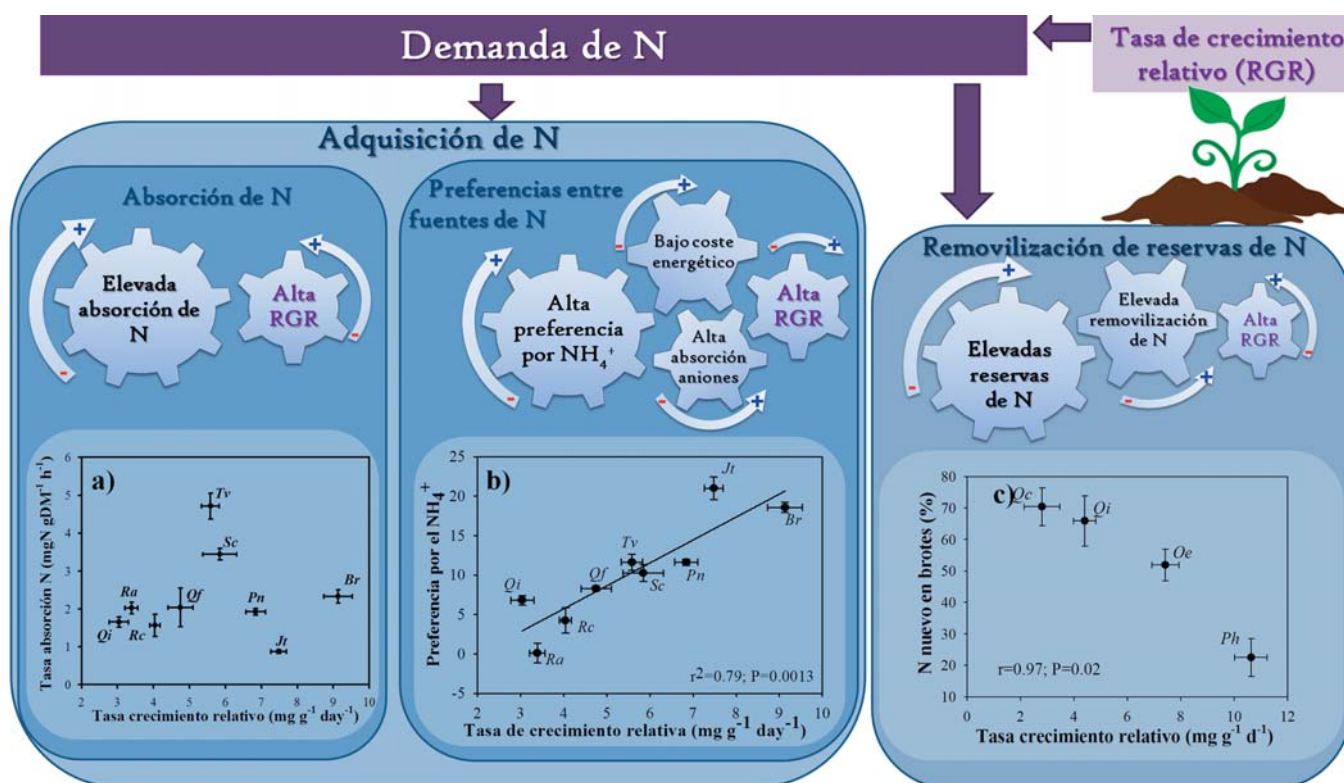


Figura 4. Modelo conceptual que relaciona la velocidad de crecimiento con los procesos para cubrir la demanda de nitrógeno (N) generada: adquisición de N, tanto en cantidad como en función de las preferencias entre fuentes de N y la removilización de reservas de N. Los distintos engranajes indican la relación entre las distintas variables. La subfigura a muestra la ausencia de relación entre la tasa de crecimiento relativa (RGR) y la tasa de absorción de N en nueve especies forestales mediterráneas ($n = 8$). La subfigura b muestra la relación lineal positiva entre RGR y la preferencia por el NH_4^+ (valores entre -100 y +100) en nueve especies forestales mediterráneas ($n = 8$). La preferencia es un índice que se calculó comparando la proporción de NH_4^+ absorbido con respecto al total de N absorbido y la abundancia relativa de NH_4^+ presente en el suelo. Así, si las especies no presentan preferencia por el NH_4^+ la absorción será función de su abundancia relativa en el suelo y por tanto el valor de la preferencia será cero. Valores negativos de preferencia de NH_4^+ indican que esta fuente de N es absorbida por debajo de su abundancia relativa en suelo, mientras que valores positivos indican que se ha absorbido preferentemente, es decir, por encima de su abundancia relativa en el suelo. En la subfigura c se muestra la relación lineal negativa entre RGR y la proporción de N edáfico (N nuevo) en los brotes nuevos crecidos en primavera en plantas de dos savias de cuatro especies forestales mediterráneas ($n = 8$). Los datos son medias \pm un error estándar. Br- *Brachipodium retusum*; Tv- *Thymus vulgaris*; Sc- *Santolina chamaecyparissus*; Rc- *Rosa canina*; Ra- *Rhamnus alaternus*; Jt- *Juniperus thurifera*; Pn- *Pinus nigra*; Ph- *Pinus halepensis*; Qc- *Quercus coccifera*; Qi- *Quercus ilex*; Qf- *Quercus faginea* y Oe-*Olea europaea*.

MERCEDES USCOLA

Ecofisiología del nitrógeno en plantas mediterráneas: estrategias de absorción de distintas formas de nitrógeno, respuesta funcional y utilización de las reservas para el crecimiento.

Tesis Doctoral

Departamento de Ciencias de la Vida, Universidad de Alcalá

Julio 2013

Directores: Pedro Villar-Salvador y Juan Oliet-Palá

Publicaciones resultantes de la tesis

- Uscola, M., Villar-Salvador, P., Oliet-Palá, J.A., Warren, C. 2014. Foliar absorption and root translocation of nitrogen from different chemical forms in seedlings of two Mediterranean trees. *Environmental and Experimental Botany* 104:34-43.
- Uscola, M., Oliet, J.A., Villar-Salvador, P., Díaz-Pinés, E., Jacobs, D.F. 2013. Nitrogen form and concentration interactively affect the performance of two ecologically distinct Mediterranean forest trees. *European Journal of Forest Research* 133:235-246.
- Uscola, M., Villar-Salvador, P., Oliet J.A., Warren, C. 2013. Eficacia de la fertilización foliar con diferentes fuentes de nitrógeno en la sobrecarga de plántulas de *Pinus halepensis* Mill. y *Quercus ilex* L. En: Martínez Ruiz, C., Lario Leza, F.J., Fernández Santos, B. (eds.), *Avances en la restauración de sistemas forestales: técnicas de implantación* (pp. 121-127). SECF-AEET, Madrid, España.
- Uscola, M., Villar-Salvador, P., Maillard, P. 2013. Importancia de las reservas de nitrógeno para el crecimiento de las plantas leñosas mediterráneas en primavera. Implicaciones para el cultivo en vivero. En: Ros, G., Guerrero, A., Aguado, J., Hidalgo, M.A. (eds.), *Cuartas Jornadas de Jóvenes Investigadores de la Universidad de Alcalá* (pp. 63-73). Obras colectivas de Ciencias 12. Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, España.
- Villar-Salvador, P., Puértolas, J., Cuesta, B., Peñuelas, J.L., Uscola, M., Heredia-Guerrero, N., Rey Benayas, J.M. 2012. Increase in size and nitrogen concentration enhances seedling survival in Mediterranean plantations. Insights from an ecophysiological conceptual model of plant survival. *New Forests* 43(5-6), 755-770. doi:10.1007/s11056-012-9328-6
- Uscola, M., Villar-Salvador, P., Heredia, N. 2008. Efecto de la fertilización edáfica con nitrato y amonio y la fertilización foliar con aminoácidos sobre el crecimiento de dos especies forestales mediterráneas: *Quercus ilex* y *Pinus halepensis*. En: Romero Monreal, L. (Coord.), *Presente y Futuro de la Nutrición Mineral de las Plantas* (pp. 109-120). Universidad de Granada, Granada, España